

Diplomová práce: Hana Vaněčková „**Odstraňování microcystinů při úpravě vody doprovázené ekotoxikologickými testy na druhu *Daphnia magna***“.

Předkládaná diplomová práce je součástí rozsáhlého výzkumu zaměřeného na objasnění vlivu organických látek produkovaných sinicemi a řasami na postupy aplikované při úpravě vody. Práce se skládá ze dvou na sebe navazujících částí. První část je zaměřena na koagulaci AOM (Algal Organic Matter) s tím, že výsledky budou využity ve druhé části práce zaměřené na posouzení akutní a chronické toxicity zbytkových koncentrací AOM (nízkomolekulární nekoagulovatelná složka AOM) pomocí testů s perloočkami *Daphnia magna*. Zatímco první část práce je zatížena řadou nedostatků (podrobněji jsou popsány níže), druhá toxikologická část práce je naopak provedena na velmi solidní úrovni. Tato situace vznikla jistým podceněním první části práce ze strany studentky při vědomí toho, že stěžejní jsou, a to skutečně jsou, především toxikologické testy. Toxikologická část práce je pak zpracována velmi zdařilým způsobem, experimenty byly provedeny velmi pečlivě, a to i přes ne zcela optimální podmínky, které k těmto typům testů zázemí PŘF UK nabízí. Literární část týkající se toxikologické problematiky je dostatečná, výsledky jsou pečlivě a věcně správně zpracované a následně také relevantně interpretované! S ohledem na kvalitně provedenou toxikologickou část práce se následně zaměřím především na část týkající se koagulačních pokusů.

Původním cílem diplomové práce, tak jak byl definován při společných sezeních školitele s diplomantkou, bylo posoudit akutní a chronickou toxicitu nízkomolekulární složky AOM, která není odstranitelná konvenčním způsobem úpravy vody koagulací/flokulací a na základě výsledků navrhnout další možný stupeň úpravy, např. adsorpci na aktivním uhlí a následně opět posoudit toxicitu výsledného produktu. Takto byl cíl definován především proto, že je všeobecně známo, že nízkomolekulární AOM (především sacharidy a peptidy a s nimi i microcystiny) se koagulačními procesy neodstraňují a k jejich eliminaci je třeba zavést další stupeň úpravy vody. Praktičnost cíle spočívala především ve skutečnosti, že v současné době velká řada úpraven vody nemá k dispozici úpravu vody pomocí terciálního stupně (sorpční procesy, membránová filtrace), přesto je však nucena vyrovnat se s následky zvýšených koncentrací AOM v surové vodě v důsledku eutrofizace povrchových zdrojů pitné vody. Bohužel, tento cíl se v průběhu řešení diplomové práce smrškl „pouze“ na posouzení toxicity microcystinů procházejících úpravou vody, čímž vznikly určité nesrovnalosti mezi novým cílem a faktickými možnostmi diplomantky.

Cíle, tak jak jsou v definované v konečné verzi DP, bohužel neumožňují dosáhnout zcela uspokojivého řešení. Lze je shrnout v následující: **posoudit účinnost koagulace na odstraňování microcystinů a posoudit jejich působení na jednotlivce a kmeny druhu *Daphnia magna***. Problém spočívá především v tom, že nelze posoudit působení microcystinů jako chemických individuů na perloočky, protože byly v toxikologických pokusech dávkovány ve směsi ostatních AOM, kde navíc představovaly pouze zlomek obsahu všech organických látek. Není tedy možné zcela korektním způsobem posuzovat toxicitu určitého chemického individua, když v reálu jsou perloočky vystaveny působení celé řady látek, navíc s mnohem vyšším zastoupením. S ne zcela vhodně definovaným cílem souvisí i jedna z hypotéz diplomové práce: „*Koagulací bude odstraněno minimálně 50% sledovaných forem microcystinů*“. Tato hypotéza vychází bohužel ze zcela chybné interpretace práce Pivokonský a kol., 2009, která prokázala cca 50% účinnost odstranění AOM koagulací. Jedná se však o celou sumu AOM, tedy heterogenní směs všech látek produkovaných fytoplanktonem, z nichž microcystiny představují obvykle jen nepatrnou část látek (<< 1%). Není tedy možné z celkové sumy odstranění AOM usuzovat, že i míra odstranění microcystinů bude 50% (koagulace je specifický proces). Bohužel v této

souvislosti musím konstatovat, že pokud by se diplomantka hlouběji ponořila do problematiky koagulace AOM, zjistila by, že naopak odborné práce publikované v posledních cca 5 letech jasně prokazují, že nízkomolekulární (MW < 10 kDa) složky AOM, a tedy i microcystiny (MW cca 1 kDa) se, jak již bylo řečeno, koagulační prakticky vůbec neodstraňují a je třeba je eliminovat jiným způsobem, např. sorpcí na aktivním uhlí. Bohužel tato skutečnost poznamenala celou diplomovou práci a všechny následné nedostatky jsou její příčinou! Nicméně pokud by cíle práce byly definovány širěji, tj. na celou nekoagulovatelnou složku AOM, byla by předložená práce již zcela korektní a dávala by velmi dobrý smysl!

Diplomová práce vyvolává poněkud rozporuplné dojmy. Na jedné straně je vidět úporná snaha diplomantky o vypracování kvalitní práce (pasáže týkající se toxikologických testů s perloočkami jsou na velmi dobré odborné úrovni), na straně druhé je postavena na poněkud nejistých základech. S tím souvisí například i skutečnost, že rešeršní část týkající se koagulace AOM je vypracována nedostatečně, nemá dostatečnou hloubku a jedné ze stěžejních částí – koagulaci AOM je zde věnováno 12 řádků! Na základě těchto 12 řádků si nelze udělat ucelený přehled o problematice koagulace přírodních organických látek. V tomto kontextu pak některá tvrzení vyvolávají ve čtenáři poněkud rozpačitý dojem - např. poslední věta na straně 15, kde diplomantka konstatuje, že přestože AOM způsobují řadu problémů při úpravě vody, nebylo jim až doposud věnováno příliš mnoho pozornosti. Opak je pravdou! V současné době se jedná o jedno z nejžhavějších témat ve vodním hospodářství a ročně vychází desítky (spíše stovky), prací na toto téma. Literární rešerši týkající se odstraňování AOM při úpravě vody považují za naprosto nedostatečnou. Stejně tak rešerši popisující vlastnosti a složení AOM. Zjištěné výsledky a jejich diskuse v koagulační části práce pak odpovídají tomuto faktu.

Diskuse je v oblasti koagulace AOM, tak jako rešerše, nedostatečná a místy i věcně nesprávná a je ve velkém kontrastu s kvalitní diskusí týkající se toxikologické části práce. Jako příklad lze uvést tvrzení: „Při mých experimentech byla účinnost odstranění analyzovaných forem microcystinu koagulačním procesem úpravy vody nulová. Tato skutečnost je tak v souladu s hypotézou, že v oblasti nejvyšší vazebné kapacity Fe peptidů/proteinů (pH=6,2) je proces koagulace inhibován vznikem Fe-peptidových/proteinových komplexů (Pivokonský a kol., 2012). Toto tvrzení je ale zcela mylné a svědčí o nepochopení problematiky koagulace, respektive tvorby Fe-peptidových/proteinových komplexů. Právě při pH okolo 6 mají AOM peptidy/proteiny nejvyšší kapacitu vázat vícemocné kationty kovů, což je příčinou vzniku komplexů, které inhibují koagulaci, takže v této oblasti pH je logicky účinnost koagulace nízká! Navíc tato hypotéza nikde v práci nebyla vyslovena! Proč se jako optimální brala hodnota pH, při které je proces koagulace inhibován a jak tato skutečnost souvisí s nulovou účinností odstranění microcystinů? Na diskusi je také pozoruhodná ta skutečnost, že přináší řadu důkazů proč výše zmiňovaná hypotéza („*Koagulační bude odstraněno minimálně 50% sledovaných forem microcystinů*“) je nesmyslná, viz např. tvrzení (strana 41): „Vyzváány však byly především proteiny vyšších molekulových hmotností, do nichž microcystiny s molekulovou hmotností pohybující se v rozmezí 800-1000 Da (Hitzfeld a kol., 2000) rozhodně nepatří. Pokud tato informace byla známa už při formování hypotéz práce (a to byla), proč byla tato hypotéza vůbec definována?“

Některé závěry práce jsou pak v kontextu předchozího chybné! Jedná se například už o první větu kap. 8 (strana 49) „V rámci mé diplomové práce jsem experimentálně zjišťovala, zda je možné odstranit látky produkované sinicovým květem prostřednictvím běžného procesu úpravy vody – koagulace“. To přece vůbec nebylo předmětem dané diplomové práce! A je tedy nebo ne? Práce se touto skutečností nezabývá a ani na ni tudíž neodpovídá! Dále je třeba konstatovat, že většina toxikologických závěrů, respektive závěrů týkajících se vlivu microcystinů na vitalitu perlooček je

zavádějící, a to už z prostého faktu, že práce byla nastavena tak, že klony *Daphnia magna* nebyly vystaveny působení microcystinů, ale směsi nekoagulovatelných AOM (vesměs nízkomolekulární peptidy, aminokyseliny a mono- a oligosacharidy), kde microcystiny představují jen nepatrný zlomek obsahu! Přesto, že jsem na tento fakt několikrát upozorňoval, nebyl zohledněn.

Vedle již zmíněných negativ musím uznat, že diplomantka zpracovala především toxikologickou část práce velmi pečlivě, že v době vlastního řešení diplomové práce a provádění toxikologických testů vynakládala nemalé úsilí a potýkala se s řadou problémů, z nichž většinu zdárně vyřešila. Dále musím konstatovat, že pokud by se upravily cíle práce, tak aby odpovídaly skutečně provedeným experimentům, rozšířila rešeršní a diskusní část, dostala by diplomová práce Hany Vaněčkové úplně jiný rozměr! Všechny tyto problémy mohly být ale v klidu vyřešeny, pokud by diplomantka práci řešila standardním způsobem. V této souvislosti navrhuji, aby po obhajobě byla práce doplněna o errata, ve kterých se sjednotí cíle s reálně dosaženými výsledky a opraví některá chybná tvrzení.

Po zvážení všech okolností s vědomím osobního i profesního potenciálu diplomantky práci doporučuji k obhajobě. Věřím, že přes všechny uvedené nedostatky bude diplomantka schopna prokázat dostatečnou odbornou zdatnost a vypořádá se všemi připomínkami, které jistě při obhajobě zazní.

V Praze 18/5/2015

RNDr. Martin Pivokonský, Ph.D.